



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 100 24 451 A 1**

⑤① Int. Cl. 7:
A 61 K 38/17
A 61 K 9/08
A 61 K 9/10

⑳ Aktenzeichen: 100 24 451.3
㉔ Anmeldetag: 18. 5. 2000
㉕ Offenlegungstag: 29. 11. 2001

DE 100 24 451 A 1

⑦① Anmelder:
ASTA MEDICA AG, 01277 Dresden, DE

⑦② Erfinder:
Bauer, Horst, Dr., 91217 Hersbruck, DE; Damm,
Michael, 63322 Rödermark, DE; Sarlikiotis, Werner,
Dr., Peania, GR

⑤⑤ Entgegenhaltungen:
DE 199 11 771 A1
DE 195 42 837 A1
DE 43 42 091 A1
DE 43 05 225 A1
DD 1 41 996

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Pharmazeutische Darreichungsform für Peptide, Verfahren zu deren Herstellung und Verwendung

⑤⑦ Die Erfindung betrifft pharmazeutische, zur parenteralen Anwendung geeignete Darreichungsformen, die zur Aggregation neigende Peptide in Form ihrer Acetat-, Gluconat-, Glucuronat-, Lactat-, Zitrat-, Ascorbat-, Benzoat- oder Phosphat-Salze gelöst oder dispergiert enthält und zusätzlich eine der genannten Säuren als freie Säure umfasst.

DE 100 24 451 A 1

Beschreibung

- [0001] Die Erfindung betrifft neue galenische Formen zur parenteralen Anwendung von zur Aggregation neigenden Peptiden, insbesondere von LHRH-Analoga bzw. LHRH-Antagonisten und -Agonisten sowie Verfahren zu deren Herstellung und Verwendung.
- [0002] Es ist aus EP 0 299 402 bekannt, pharmazeutisch wirksame Decapeptide wie SB-030, SB-075 (Cetorelix) und SB-088 in Form ihrer pharmazeutisch akzeptablen, nicht toxischen Säureadditionssalze wie Hydrochloride, Hydrobromide, Sulfate, Phosphate, Fumarate, Gluconate, Tannate, Maleate, Acetate, Citrate, Benzoate, Succinate, Alginate, Pamoate, Ascorbate und Tartrate u. s. w. einzusetzen.
- [0003] Aus JP 06321800-A ist ferner eine lyophilisierte Peptid- oder Proteinpräparation bekannt, die Gluconatsalze als Stabilisatoren enthält. In einem Beispiel enthält die Lösung 2,5% Magnesium Gluconat, wobei als Wirkstoffe u. a. Vasopressin, LHRH und Insulin beschrieben sind.
- [0004] Aus der Literatur ist unter anderem aus Powell, M. F., *Pharmaceutical Research*, 1258-1263(8) 1991; Dathe M., *Int. J. Peptide Protein Res.* 344-349(36) 1990, und Szejtli, J. *Pharmaceutical Technology International* 16-22, 1991, bekannt, daß Oligopeptide und zwar besonders solche mit endständiger Säureamidfunktion zur Gelbildung neigen.
- [0005] Im EP 0 611 572 ist ein Herstellungsverfahren für ein Lyophilisat aus einem Peptid mit 3-15 Aminosäuren beschrieben, wonach 100-10 000 Gewichtsteile des Peptides in Essigsäure aufgelöst und mit Gerüststoffen wie Mannit versetzt sowie anschließend lyophilisiert werden, um ein sterilfiltriertes Lyophilisat des Peptides zu erhalten und Gelbildung zu vermeiden.
- [0006] In der DE OS 195 42 873 sind kompliziert zusammengesetzte pharmazeutische Darreichungsformen in Form von Mikropartikeln beschrieben, wonach man ein ABA-Triblock-Copolymer verwendet, dessen A-Block ein Polymer aus Milch und Glykolsäure und dessen B Polymer eine Polyethylenglykolkette darstellt zusammen mit einem Zuschlagstoff aus der Gruppe der Serumproteine, Polyaminosäuren, Cyclodextrine, Cyclodextrinderivate, Saccharide, Aminosucker, Aminosäuren, Detergentien oder Carbonsäuren sowie Gemischen dieser Stoffe. Die beschriebenen Mikropartikel sollen auch nach Einschluß geringer bzw. aggregationsempfindlicher Polypeptidmengen das Polypeptid über einen längeren Zeitraum kontinuierlich freisetzen.
- [0007] In DD 141 996 wird die Herstellung von Arzneiformen des nativem LHRH beschrieben, die über einen längeren Zeitraum stabil sind und den Anforderungen an ein parenteral applizierbares Präparat entsprechen. Der Schwerpunkt ist hierbei die Verbesserung der Haltbarkeit dieser Präparationen (Seite 2, Zeilen 19-23). Über die Filtrierbarkeit der Lösungen wird keine Aussage gemacht. Darüber hinaus werden zur Verbesserung der Haltbarkeit auch Puffersubstanzen (auch Essigsäure) eingesetzt, um einen pH Bereich von pH 3,5-6,5 einzustellen. Das Problem, aus gelbildenden Peptidsalzen sterile Lyophilisate herzustellen, wird dort nicht gelöst.
- [0008] In EP 0 175 506 wird eine wäßrige Lösung des Peptides mit 1N Essigsäure behandelt und danach lyophilisiert, um das Acetatsalz des Peptides zu erhalten. Somit ist der Gegenstand dieser Anmeldung die Synthese der Peptidsalze.
- [0009] Es hat sich aber gezeigt, daß bei den bekannten Acetatsalzen der zur Aggregation neigenden Peptide, wie z. B. der LHRH-Antagonisten, die Herstellung steriler Lösungen zur parenteralen Anwendung mittels Filtration, speziell bei hohen Konzentrationen zwar möglich ist, sich jedoch Aggregate nach der Auflösung des Lyophilisates kurz vor der Injektion formen können. Die Aggregate führen nun zu einer konzentrationsabhängigen Erniedrigung der Bioverfügbarkeit ab einer Peptid-Konzentration von 0,5 mg/ml.
- [0010] Das genannte Problem tritt nicht nur bei Injektionslösungen, die zwecks einer schnellen Wirkstofffreisetzung appliziert werden, auf, sondern wird auch bei Injektionspräparaten beobachtet, die eine verzögerte Freisetzung zeigen. So können Peptide, inkorporiert in Matrices, welche die Wirkstofffreisetzung steuern sollen, aufgrund ihrer Neigung zur Aggregation eine unerwünschte niedrige Freisetzung aufweisen. So ist auch hier die Bioverfügbarkeit erniedrigt.
- [0011] Ausgehend von der Tatsache, daß die bevorzugte Applikation von pharmazeutisch wirksamen Peptiden wie LHRH-Agonisten und -Antagonisten, beispielsweise Antarelix und Cetorelix, die parenterale Arzneiform ist, bestand ein Bedarf an der Bereitstellung stabiler Injektionspräparate mit akzeptabler Bioverfügbarkeit, die sich günstig herstellen, sterilfiltrieren und konfektionieren lassen. Dies gilt insbesondere für Injektionspräparate in Form von rekonstituierten Lyophilisaten aus löslichen Peptidsalzen und für Mikropartikel, Mikrokapseln oder Implantate.
- [0012] Dies ist umso mehr von Bedeutung in Anbetracht der immer mehr bekannt werdenden vielseitigen Anwendungsgebiete der LHRH-Antagonisten.
- [0013] Eine breitere Auswahl parenteral, insbesondere subcutan injizierbarer, stabiler Peptidlösungen im Hinblick auf die schnell wachsenden Indikationsgebiete dieser Stoffklasse ist wünschenswert.
- [0014] Es wurden nun pharmazeutische, zur parenteralen Anwendung geeignete Darreichungsformen, die zur Aggregation neigende Peptide in gelöster oder dispergierter Form enthalten, entwickelt, welche sich dadurch auszeichnen, daß die Peptide in Form ihrer Acetat-, Gluconat-, Glucuronat-, Lactat-, Zitrat-, Ascorbat-, Benzoat- oder Phosphat-Salze vorliegen und daß diese Darreichungsformen zusätzlich eine der eben genannten Säuren als freie Säuren beinhalten können sowie ggf. weitere Zusatz- und Hilfsstoffe aus der Klasse der Säuren, oberflächenaktiven Substanzen, Polymere, Lipide oder Zucker.
- [0015] Diese pharmazeutischen Darreichungsformen können in Wasser oder in wäßrigen Lösungsmittelgemischen in gelöster oder dispergierter Form vorliegen.
- [0016] Nach einer weiteren Ausführungsform der Erfindung können die pharmazeutischen Darreichungsformen auch in einem physiologisch verträglichen Öl, vorzugsweise mittelkettige Triglyceride (Neutralöle, Miglyol®) bzw. Rizinusöl, Sesamöl, Baumwollsaamenöl, Maisöl, Erdnußöl, Olivenöl oder in Gemischen solcher Öle, in gelöster oder dispergierter Form vorliegen.
- [0017] Bei den zum Einsatz gelangenden Peptiden handelt es sich um die LHRH-Antagonisten Antide, A-75998, Ganirelix und Nal-Glu-Antagonist, insbesondere jedoch um Cetorelix, Antarelix sowie die Antagonisten gemäß der Patente US 5,942,493 und DE 199 11 771.3.
- [0018] Als Säuren in der Hilfsstofffunktion werden Gluconsäure, Glucuronsäure, Galacturonsäure, Glucarsäure, Zitro-

nensäure, Ascorbinsäure und Aminosäuren eingesetzt.

[0019] Somit ist es möglich, die Aggregation des Peptides zu unterdrücken und so die Anforderungen an ein Präparat mit guter Bioverfügbarkeit zu erfüllen, so den Arzneischatz zu bereichern und das bei einer effizienten galenischen Technologie. Es wurde weiter überraschend gefunden, daß durch den Zusatz von Glucon-, Glucuron-, Zitronen-, Milch- bzw. Ascorbinsäure außerdem die Stabilität diverser Cetorelix-Salze erheblich verbessert wird.

[0020] Erfindungsgemäß ist so die Herstellung und Konfektionierung sterilfiltrierter, stabiler Präparate problemlos möglich.

[0021] Vorteilhaft ist es zusätzlich, geeignete Hilfsstoffe zuzusetzen. Diese Hilfsstoffe können Säuren, oberflächenaktive Substanzen, Polymere, Lipide oder Zucker sein. Beispiele für Säuren sind Gluconsäure, Glucuronsäure, Galacturonsäure, Glucarsäure, Milch-, Zitronensäure, Ascorbinsäure und Aminosäuren. Als oberflächenaktive Substanzen können Polyäthylenglykol-12-(hydroxy)-stearat (Solutol®), Polyoxyethylenrizinoleat (Cremophor®), Polysorbate, Poloxamere, Phospholipide, Lecithine oder Benzalkoniumchlorid eingesetzt werden. Geeignete Polymere sind Albumine, Polyethylenglykole, Cellulosederivate, Stärkederivate oder Polyvinylpyrrolidon. Beispiele für Zucker sind Cyclodextrine und Cyclodextrinderivate. Auch sogenannte chaotrope Substanzen wie Harnstoff können als Zusatz- bzw. Hilfsstoffe dienen.

[0022] Das Einsatzgebiet der erfindungsgemäßen Zubereitungen liegt insbesondere in der Prävention und Therapie alter durch LHRH-Analoga, d. h. LHRH-Agonisten und LHRH-Antagonisten, beeinflussbaren Sexualhormon-abhängigen Zustände und Erkrankungen. Hierbei sind hervorzuheben:

[0023] Benigne Prostatahyperplasie, Prostatakarzinom, Pubertas Praecox, Hirsutismus, Endometriumhyperplasie sowie deren Begleiterscheinungen, Endometriumkarzinom, In vitro Fertilisation (IVF/COS/ART), Kontrazeption, Prämenstruelles Syndrom (PMS), Uterusmyomatose, Brustkrebs, Tubal Obstruktion (PTO), Ovarialkrebs, Uteruskarzinom. Als LHRH-Antagonisten sind für die erfindungsgemäße Zusammensetzung folgende Substanzen besonders bevorzugt: Cetorelix, Antarelix, Antide, A-75998, Ganirelix, der Nal-Glu Antagonist, sowie LHRH-Antagonisten gemäß der Patente US 5,942,493 und DE 199 11 771.3.

Beispiel 1

[0024] Mittels Polarisations-Mikroskopie wurden Aggregationsuntersuchungen an Lösungen von verschiedenen Cetorelix-Salzen ohne bzw. mit Zusatz von Hilfsstoffen durchgeführt.

[0025] Aggregierte Peptid-Lösungen zeigen im Polarisations-Lichtmikroskop mit gekreuzten Polarisatoren Bilder, die denen von flüssigkristallinen Strukturen sehr ähnlich sind. Im Gegensatz dazu ergeben aggregatfreie Peptid-Lösungen keine solchen Effekte.

Tab. 1: Einfluß eines Gluconsäure-Zusatzes auf das Aggregationsverhalten von Cetorelix- Acetat-Lösungen

Konzentration Cetorelix-acetat, mg/ml	Gluconsäure im Rekonstitutionsmedium, %:	pH-Wert	Tage ohne Aggregation
2,5	0	4,7	1
2,5	0,0071	4,5	2
2,5	0,071	3,7	2
2,5	0,71	3,1	12

[0026] Somit bewirkt der Zusatz von Gluconsäure eine Verbesserung der Stabilität von Cetorelix-Acetat Lösungen, indem die Aggregation verzögert bzw. verhindert wird.

[0027] Weitere Versuche konzentrierten sich auf Cetorelix-Gluconat ohne bzw. mit Zusatz von Gluconsäure. Die wichtigsten Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Tab. 2: Aggregationsverhalten verschiedener Lösungen, die aus Bulkware von Cetorelix-Gluconat hergestellt wurden

5	Gluconsäure-Zusatz:		Ja		Nein	
	Konzentration Cetorelix, mg/ml	pH	Tage ohne Aggregation	pH	Tage ohne Aggregation	
	2,5	3,0	> 30			
10	5	3,6	4	4,8	1	
	5	3,8	4	4,7	1	
15	7,5	3,4	1	4,7	0	
	7,5	3,7	1	4,8	0	

[0028] Cetorelix-Gluconat bietet somit Vorteile im Vergleich zu dem Acetat-Salz. Der Zusatz von Gluconsäure erhöht die Haltbarkeit von Cetorelix-Gluconat Lösungen.

[0029] Darüberhinaus wurde der stabilisierende Einfluß von Glucuronsäure auf Cetorelix-Acetat-Lösungen und als weiteres Salz auch Cetorelix-Glucuronat auf sein Aggregationsverhalten hin getestet. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

25 Tab. 3: Aggregationsverhalten verschieden konzentrierter Lösungen von Cetorelix-Acetat und Cetorelix-Glucuronat ohne bzw. mit Zusatz von Glucuronsäure

30	Glucuronsäure-Zusatz:		Ja		Nein	
	Salzform	Konzentration Cetorelix, mg/ml	PH	Tage ohne Aggregation	pH	Tage ohne Aggregation
	Acetat	2,5	3,0	> 21	4,7	0
35	Acetat	5	3,0	0		
40	Glucuronat	2,5	2,9	> 30	4,5	3
	Glucuronat	5	2,7	> 30	4,6	0

45 [0030] Auch durch den Ersatz des Acetat-Salzes durch ein Glucuronat-Salz können signifikante Verbesserungen bezüglich der Aggregations-Stabilität von Cetorelix-Lösungen ähnlich wie mit dem Gluconat-Salz erzielt werden. Durch den Zusatz von Glucuronsäure zu Cetorelix-Glucuronat-Lösungen kann die Aggregationsstabilität dieser Lösungen noch weiter verbessert werden.

50 Tab. 4: Aggregationsfreie Zeitdauer in Tagen von Cetorelixacetat-Lösungen nach Zusatz von 10% α -Cyclodextrin, 20% Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin bzw. 20% γ -Cyclodextrin

55	Konzentration Cetorelixacetat, mg/ml	α -Cyclodextrin	Hydroxypropyl- β - Cyclodextrin	γ -Cyclodextrin
	2,5	7	24	98 + (168, 182, 189)
	5	0	7	31 + (140, 147, 182)
	7,5	0	10	5 + (20, 20, 20)
60	10	0	2	2 + (4, 4, 4)
	15		0	0

[0031] Durch den Zusatz von Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin und besonders von γ -Cyclodextrin kann die Aggregationsstabilität von Cetorelixacetat-Lösungen signifikant verbessert werden.

DE 100 24 451 A 1

Tab. 5: Aggregationsfreie Zeitdauer in Tagen von 2,5 mg/ml Cetrorelixgluconat-Lösungen nach Zusatz von α -Cyclodextrin, Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin bzw. γ -Cyclodextrin

Cyclodextrin-Typ	Konzentration Cyclodextrin, %	Tage ohne Aggregation
γ -Cyclodextrin	20	182
	6,8	126
Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin	20	189
	6,8	91
α -Cyclodextrin	10	140
	5	1

[0032] Durch den Zusatz von Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin bzw. von γ -Cyclodextrin kann auch die Aggregationsstabilität von Cetrorelixgluconat-Lösungen significant verbessert werden.

Tab. 6: Aggregationsfreie Zeitdauer in Tagen von Cetrorelixacetat-Lösungen mit Zusatz von Polyvinylpyrrolidon (Kollidon® 12 PF bzw. 17 PF)

Konzentration Cetrorelix, mg/ml	Konzentration an Kollidon®, %	Tage ohne Aggregation mit Kollidon® 12 PF	Tage ohne Aggregation mit Kollidon® 17 PF
2,5	0	0	0
	5	1	2
	10	1	2
	15	77	63
	20	84	98
5			
	15	0	1
	20	0	1

[0033] Auch durch den Zusatz verschiedener Polyvinylpyrrolidon-Typen kann die Aggregationsstabilität von Cetrorelixacetat-Lösungen significant verbessert werden.

DE 100 24 451 A 1

Tab. 7: Aggregationsverhalten von Cetorelixacetat-Lösungen unter Zusatz verschiedener Hilfsstoffe beurteilt mittels Polarisations-Mikroskopie und nach dem optischen Erscheinungsbild (Aussehen)

Hilfsstoff	Konz.	Konz.	Aggregation	Aussehen
	Hilfsstoff	Cetorelix	(Mikroskopie)	
Solutol® HS 15	5,00%	2,5 mg/ml	ja, nach 14 Tagen	klare Lösung
	10,00%	2,5 mg/ml	>112 Tage ohne Aggregation	Klare Lösung
	20,00%	2,5 mg/ml	>112 Tage ohne Aggregation	Klare Lösung
Cremophor® EL	5,00%	2,5 mg/ml	ja, nach 10 Tagen	Klare Lösung
	10,00%	2,5 mg/ml	> 112 Tage ohne Aggregation	klare Lösung
	20,00%	2,5 mg/ml	> 112 Tage ohne Aggregation	klare Lösung
	20,00%	5 mg/ml	ja, nach 1 Tag	klar, viskos
L-Glutaminsäure	0,80%	2,5 mg/ml	ja, nach 2 Tagen	klare Lösung, pH 3,8
Glucarsäure	2,50%	2,5 mg/ml	> 12 Tage ohne Aggregation	klare Lösung, pH 2,5
Galacturonsäure	2,50%	2,5 mg/ml	> 12 Tage ohne Aggregation	klare Lösung, pH 2,6

Beispiel 2

[0034] Cetorelix-Bulkware wird in 30%iger Essigsäure in einer Konzentration von 10 mg/ml gelöst und mit einer wässrigen Lösung der Zusatzstoffe auf eine Endkonzentration von 1 mg/ml Peptid in 3% Essigsäure verdünnt. Diese Lösung wird dann sterilfiltriert und lyophilisiert (5 mg pro Vial).

[0035] Nach Rekonstitution dieser Lyophilisate werden die Lösungen (2,5 mg/ml Cetorelix) in folgenden Tests auf Aggregatbildung und Freisetzungsverhalten hin untersucht:

– Polarisationsmikroskopie (Pol. Mik.): Tage ohne Aggregation.

– Filtrierbarkeit in %:

Cetorelix-Lösungen werden nach einem standardisierten Verfahren hergestellt und durch 0,22 µm bzw. 0,45 µm Filter mittels Zentrifugation filtriert. Die Konzentration an Cetorelix im Filtrat wird per HPLC bestimmt und als %-Wert, bezogen auf die Ausgangskonzentration vor Filtration, angegeben (Filtrierbarkeit in %).

– in-vitro-Freisetzung Kurzform (RRS, Release in Ringer Solution):

% freigesetzt nach 1 h und nach 6 h.

Das in-vitro Freisetzungsverhalten wird in einem Durchflußverfahren mit Ringer-Lösung als Medium bei 37°C bestimmt. Die Konzentrationsmessung erfolgt per HPLC. Cetorelix-Proben, entsprechend 10 mg Cetorelixbase, werden in die Durchflußzelle eingewogen, mit 4 ml Wasser versetzt und 10 min gerührt. Nach Zugabe von 6 ml Ringer-Lösung zur Probe wird unter Rühren gleichmäßig mit einem Fluß von 0,5 ml/min Ringer-Lösung durch die Durchflußzelle gepumpt.

– Ratten-Tierversuch: Cetorelix-Restanteil im Muskel in % der applizierten Dosis 168 h nach Injektion.

[0036] In der Tabelle 8a sind einige hergestellte Cetorelixacetat-Lyophilisatchargen und die entsprechenden Testergebnisse von daraus hergestellten 2,5 mg/ml Cetorelixacetat-Lösungen aufgeführt.

DE 100 24 451 A 1

Tab. 8a

Cetorelixacetat-Lyophilisatchargen (5 mg) ...	Pol.Mik., Tage o. Aggr.	0,22µm filtrier- bar	RRS, [%] nach		Ratte % i.m. nach
Hilfsstoffe		[%]	1h	6h	168h
nur Mannit (= Kontrolle)	0				ca. 55
Solutol® / Mannit	48	100			
Cremophor® / Mannit	46	101			
Solutol® / Alanin	16	98	17	24	
Solutol® / Alanin / Gluconsäure	19	101	57	68	5,7
Solutol® / Mannit / Gluconsäure	>45	100	84	88	3,8
Cremophor® / Mannit / Gluconsäure	>45	101			
Solutol® / Tryptophan / Mannit	unmöglich				
Solutol® / Tryptophan / Gluconsäure	6				9,6

Cyclodextrin Molverh. 1:10 / Mannit	2	101	16	27	10
Cyclodextrin Molverh. 1:10 / Mannit / Gluconsäure	>45	102	68	74	
Cyclodextrin Molverh. 1:30 / Mannit	17	100	68	76	
Cyclodextrin Molverh. 1:10 / Alanin / Gluconsäure	5	101	39	52	6,3
Mannit / Citronensäure	1	102	45	53	
Solutol® / Mannit / Citronensäure	>36	100	84	91	7,4
Solutol® / Alanin / Citronensäure	1	99	47	54	
Solutol® / Glycin	>36	97	24	31	
Solutol® / Harnstoff	21	100	32	40	
Solutol® / Glycin / Gluconsäure	>36	99	82	89	
Solutol® / Harnstoff / Gluconsäure	>36	100			
Cremophor® / Alanin / Gluconsäure	(36)				
Cremophor® / Harnstoff / Gluconsäure	(36)				
Pluronic® F127 / Mannit	1				
5% Tween® 80 / Mannit	>16				
Polyethylenglykol 4000 / Mannit	1				
Dextran / Mannit	1				
Phenylquecksilberacetat / Mannit	2				

[0037] An den aufgeführten Beispielen ist ersichtlich, daß mit einer Vielzahl der getesteten Hilfsstoffe aus verschiedenen Substanzgruppen (oberflächenaktive Substanzen, Säuren, Aminosäuren, Polymere, Zucker, Zuckeralkohole, Cyclodextrine, Konservierungsmittel) einzeln oder mit Gemischen dieser Hilfsstoffe stabilisierende Effekte in vitro (Polarisations-

DE 100 24 451 A 1

mikroskopie, Filtrierbarkeit, in vitro-Freisetzung) und in vivo erzielt werden können. Diese verringerte Aggregationstendenz und somit verbesserte in vitro Wirkstofffreisetzung führt auch im Ratten-Experiment zu verbesserten Bioverfügbarkeiten des Peptidwirkstoffes und damit zu reduzierten Restgehalten im Rattenmuskel.

[0038] Weitere in vitro- und in vivo-Daten von Chargen mit verschiedenen Cetorelix-Salzen ohne bzw. mit Zusatz von stabilisierenden Hilfsstoffen sind in folgender Tab. 8b aufgelistet:

Tab. 8b

Cetorelix-Salze (mit Wasser rekonstituiert)	Konz. Cetorelix aus Lyo	Pol.Mik Tage o. Aggr.	RRS, [%] nach		Ratte % i.m. nach
Hilfsstoffe	mg/ml		1h	6h	168h
-Acetat	2,5	0	12	24,5	ca. 55
-Acetat	2,5	0	13	35,9	ca. 55
-Acetat	5	0	10	35	
-Acetat mit Gluconsäure rekonstituiert	2,5	18	50	63,2	15,2
-Acetat + Kollidon® 12 PF	2,5	84	15	43,4	20,2
-Acetat + Kollidon® 17 PF	2,5	98	22	50,6	
-Acetat + Benzalkoniumchlorid	2,5		6,3	30,3	
-Acetat + Phospholipide	2,5		7,3	23,3	
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:10)	2,5		22,6	44,5	10
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:30)	2,5		28	56,7	
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:50)	2,5		35,1	56,6	
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:90)	2,5	> 168	34,5	60,2	3,6
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:90)	5	140	19	47,8	
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:90)	7,5	20			
-Acetat + γ -Cyclodextrin (1:90)	10	4			45,2
-Acetat mit Gluconsäure rekonstituiert	15				49,1
-Gluconat	2,5		18	45,3	
-Gluconat	2,5		11,3	46	
-Gluconat mit Gluconsäure rekonstituiert	2,5		77,5	83,6	
-Citrat	15	-	9	20,3	
-Lactat	Bulk		20	55,2	
-Embonat	15	-	13	43	

Beispiel 3

[0039] Cetorelix-Formulierungen, die weniger/langsamer zur Aggregation neigen (bessere Filtrierbarkeit/Polarisationsmikroskopie) und schnellere in-vitro Freisetzung in Ringer-Lösung zeigen, fallen durch ihren geringeren Cetorelix-Restgehalt nach 168 h im Rattenmuskel-Experiment auf. Von solchen Formulierungen erwartet man eine höhere Bioverfügbarkeit.

[0040] Einige Ergebnisse von Rattenmuskel-Experimenten sind bereits in den Tabellen 8a und 8b aufgelistet.

[0041] Bei den in Tabelle 9 gezeigten weiteren Rattenmuskel-Experimenten wurde neben dem Restgehalt im Muskel noch der Cetorelix-Anteil im Plasma bestimmt. Auch anhand dieser Daten wird der stabilisierende Einfluß der getesteten Hilfsstoffe deutlich. Außerdem konnte durch den Ersatz des Acetat-Salzes durch andere Salzformen des Cetorelix eine verbesserte Bioverfügbarkeit und einhergehend damit eine reduzierte Restmenge im Rattenmuskelexperiment erreicht werden.

Tab. 9

Substanz (Cetrorelix-)	Dosis (mg/kg)	Cetrorelix- Konzentration der Inj. Lsg. (mg/ml)	Cetrorelixanteil im Muskel (168h), % der Dosis	Cetrorelixanteil im Plasma, % der Dosis
Acetat+Solutol®+Alanin+ Gluconsäure	1,5	2,5	5,7	
Acetat+ Solutol® +Tryptophan+ Gluconsäure	1,5	2,5	9,6	
Acetat+Cyclodextrin 1:10	1,5	2,5	10,0	83,4
Acetat+ Cyclodextrin 1:10, Alanin, Gluconsäure	1,5	2,5	6,3	81,8
Acetat+ Solutol® + Gluconsäure	1,5	2,5	3,8	
Acetat+ Solutol® +Citronensäure	1,5	2,5	7,4	
Acetat	1,5	3	55,1	92,2

	Acetat in Miglyol ®	1,5	3	22,3	74,2
	Acetat+Benzalkoniumchlorid	1,5	3	76,9	39,8
5	Acetat+20% Cyclodextrin	1,5	3	3,6	106,2
	Acetat+20% Kollidon®	1,5	3	20,2	88,4
	Acetat+Glucuronsäure	1,5	3	23,6	106,1
10	Acetat + Gluconsäure	1,5	3	15,2	95,5
	Acetat + 20% Cyclodextrin	3,0	10	45,2	60,9
15	Acetat	3,0	15	56,5	28,7
	Acetat in Miglyol ®	3,0	15	24,2	57,2
	Acetat +0.025% Benzalkon.	3,0	15	10,5	21,4
20	Acetat+Glucuronsäure	3,0	15	78,1	43,8
	Acetat + Gluconsäure	3,0	15	49,1	45,5
25	Gluconat	1,5	15	37,9	46,9
	Gluconat in Mannit	1,5	3	24,6	58,0
	Gluconat in Mannit	1,5	3	25,4	75,2
30	Gluconat in Miglyol ®	1,5	3	28,8	46,3
	Gluconat in Gluconsäure	1,5	3	13,2	120,0
	Gluconat in Gluconsäure	3,0	15	29,2	
35	Gluconat in Gluconsäure	3,0	15	43,5	74,2
40	Glucuronat	1,5	3	16,5	78,6
	Glucuronat	3,0	15	18,8	
45	Lactat	3,0	15	33,2	72,1
	Lactat	1,5	3	30,7	67,1
	Citrat-Lyo/a	1,5	3	22,8	36,6
50	Citrat in Miglyol ®	1,5	3	14,8	53,1
	Base	1,5	3	27,2	122,2
	Base in Miglyol ®	1,5	3	38,9	55,9
55	Benzoat in Mannit	1,5	3	34,2	32,7
	Benzoat in Miglyol ®	1,5	3	33,1	21,1
	Phosphat	1,5	3	32,9	22,6

60

Patentansprüche

- 65 1. Pharmazeutische, zur parenteralen Anwendung geeignete Darreichungsform, die zur Aggregation neigende Peptide in gelöster oder dispergierter Form enthält **dadurch gekennzeichnet**, daß die Peptide in Form ihrer Acetat-, Gluconat-, Glucuronat-, Lactat-, Ziträt-, Ascorbat-, Benzoat- oder Phosphat-Salze vorliegen und daß diese Darreichungsformen zusätzlich eine der eben genannten Säuren als freie Säuren beinhalten sowie ggf. weitere Zusatz- und Hilfsstoffe aus der Klasse der Säuren, oberflächenaktiven Substanzen, Polymere, Lipide oder Zucker.

2. Pharmazeutische Darreichungsform zur parenteralen Anwendung nach Anspruch 1, wobei die Darreichungsform in Wasser oder in wäßrigen Lösungsmittelgemischen in gelöster oder dispergierter Form vorliegt.
3. Pharmazeutische Darreichungsform zur parenteralen Anwendung nach Anspruch 1, wobei die Darreichungsform in einem physiologisch verträglichen Öl, vorzugsweise mittelkettige Triglyceride (Neutralöle, Miglyol®) bzw. Rizinusöl, Sesamöl, Baumwollsaamenöl, Maisöl, Erdnußöl, Olivenöl oder in Gemischen solcher Öle, in gelöster oder dispergierter Form vorliegt. 5
4. Pharmazeutische Darreichungsform zur parenteralen Anwendung enthaltend zur Aggregation neigende Peptide nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet daß es sich bei den Peptiden um die LHRH-Antagonisten Antide, A-75998, Ganirelix und Nal-Glu-Antagonist, insbesondere jedoch um Cetrorelix, Antarelix sowie die Antagonisten gemäß der Patente US 5, 942, 493 und DE 199 11 771.3 handelt. 10
5. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, daß als Säuren in der Hilfsstofffunktion Gluconsäure, Glucuronsäure, Galacturonsäure, Glucarsäure, Zitronensäure, Ascorbinsäure und Aminosäuren eingesetzt werden.
6. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, daß als oberflächenaktive Substanzen Polyäthylenglykol-12- (hydroxy)-stearat (Solutol®), Polyoxyethylenrizinoleat (Cremophor®), Polysorbate, Poloxamere, Phospholipide, Lecithine oder in Form von Konservierungsmitteln, wie z. B. Benzalkoniumchlorid oder Phenylquecksilberacetat, eingesetzt werden. 15
7. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, daß als Polymere Albumine, Polyethylenglykole, Cellulosederivate, Stärkederivate oder Polyvinylpyrrolidon eingesetzt werden.
8. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, daß als Zucker Cyclodextrine oder dessen Derivate sowie Zuckeralkohole eingesetzt werden. 20
9. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, daß Harnstoff oder andere chaotrope Substanzen als Hilfsstoff eingesetzt werden.
10. Pharmazeutische Darreichungsform zur parenteralen Anwendung nach Anspruch 1, 2 und 4 dadurch gekennzeichnet, daß die Peptidsalze der Essigsäure, Gluconsäure, Glucuronsäure, Milchsäure, Zitronensäure bzw. der Ascorbinsäure in Lösungen in einer Konzentration von höher als 0,5 mg/ml vorliegen. 25
11. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 9 dadurch gekennzeichnet, daß die Wirkstofffreisetzung retardiert wird durch den Einsatz von Polymeren, bevorzugt von Homo- oder Copolymeren der Milch- und Glykolsäure und daß die Peptide als Acetat-, Gluconat-, Glucuronat-, Lactat-, Zitrat-, Ascorbat-, Benzoat- oder Phosphat-Salze vorliegen sowie ggf. weitere Hilfsstoffe gemäß Anspruch 5-9 eingesetzt werden. 30
12. Pharmazeutische Darreichungsform zur parenteralen Anwendung nach Anspruch 1, 2, 4 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß als Peptide Cetrorelix, Antarelix sowie der Antagonisten gemäß der Patente US 5, 942, 493 und DE 199 11 771.3 in Lösungen in einer Konzentration von höher als 0,5 mg/ml eingesetzt werden.
13. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1 bis 9 und 11 dadurch gekennzeichnet, daß die Wirkstofffreisetzung verzögert wird durch den Einsatz von Polymeren, bevorzugt von Homo- oder Copolymeren der Milch- und Glykolsäure, wobei die Peptide Antide, A-75998, Ganirelix und Nal-Glu-Antagonist, insbesondere jedoch Cetrorelix, Antarelix sowie die Antagonisten gemäß der Patente US 5, 942, 493 und DE 199 11 771.3 in Form ihrer Acetat-, Gluconat-, Glucuronat-, Lactat-, Zitrat-, Ascorbat-, Benzoat- oder Phosphat-Salze vorliegen und ggf. weitere Hilfsstoffe enthalten sein können. 35
14. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Darreichungsform nach Anspruch 1 und 4 dadurch gekennzeichnet, daß man durch Umsalzen von Peptidsalzen mit Essigsäure, Glucuronsäure, Gluconsäure, Milchsäure, Zitronensäure oder Ascorbinsäure die entsprechenden Salze im stöchiometrischen Verhältnis herstellt, in Wasser für Injektionszwecke löst, ggf. mit Hilfsstoffen gemäß den Ansprüchen 5-9 versetzt, anschließend sterilfiltriert, in Injektionsflaschen abfüllt und lyophilisiert. 40
15. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Darreichungsform nach Anspruch 1 und 4 dadurch gekennzeichnet, daß man durch Umsalzen von Peptidsalzen mit Essigsäure, Glucuronsäure, Gluconsäure, Milchsäure, Zitronensäure oder Ascorbinsäure die entsprechenden Salze im stöchiometrischen Verhältnis herstellt, diese Salze in an sich bekannter Weise in verzögert freisetzende Mikropartikel aus Homo- oder Copolymeren aus Milch und Glykolsäure einarbeitet und diese Mikropartikel in einem physiologisch verträglichem Medium für Injektionszwecke suspendiert. 45
16. Verwendung der neuen pharmazeutischen Darreichungsform nach einem oder mehreren der vorangegangenen Ansprüche zur parenteralen Anwendung bei Sexualhormon-abhängigen, gutartigen und bösartigen Erkrankungen.
17. Verwendung der neuen pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem oder mehreren der vorangegangenen Ansprüche zur parenteralen Anwendung bei Sexualhormon-abhängigen, gutartigen und bösartigen Erkrankungen insbesondere bei: benigner Prostatahyperplasie, Prostatakarzinom, Pubertas Praecox, Hirsutismus, Endometri- 55 umhyperplasie sowie deren Begleiterscheinungen, Endometriumkarzinom, In vitro-Fertilisation (IVF/COS/ART), Kontrazeption, Prämenstruellen Syndrom (PMS), Uterusmyomatose, Brustkrebs, Tubal Obstruction (PTO), Ovarialkrebs und Uteruskarzinom. 60

- Leerseite -